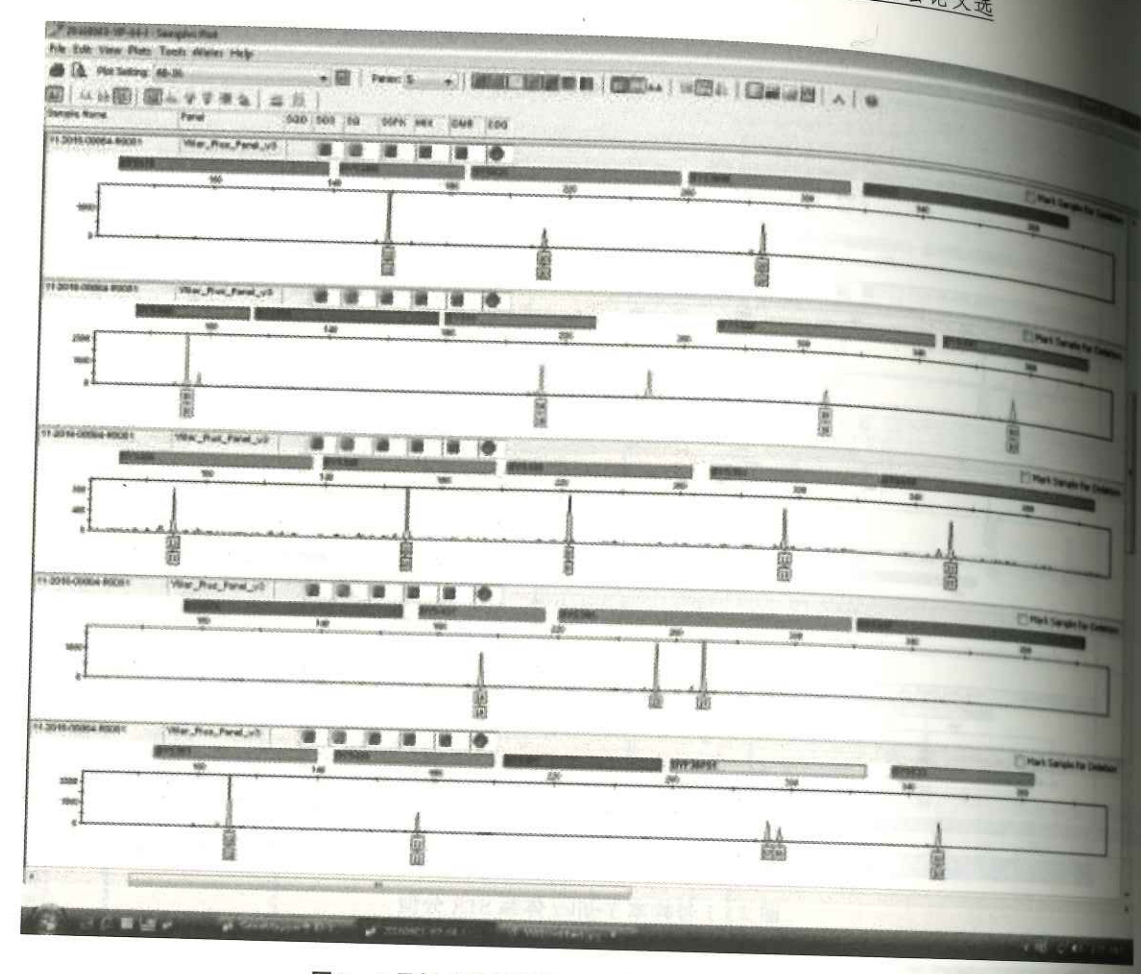


图 3　2 号样本常染色体 STR 及 Y-filer 体系 STR 分型

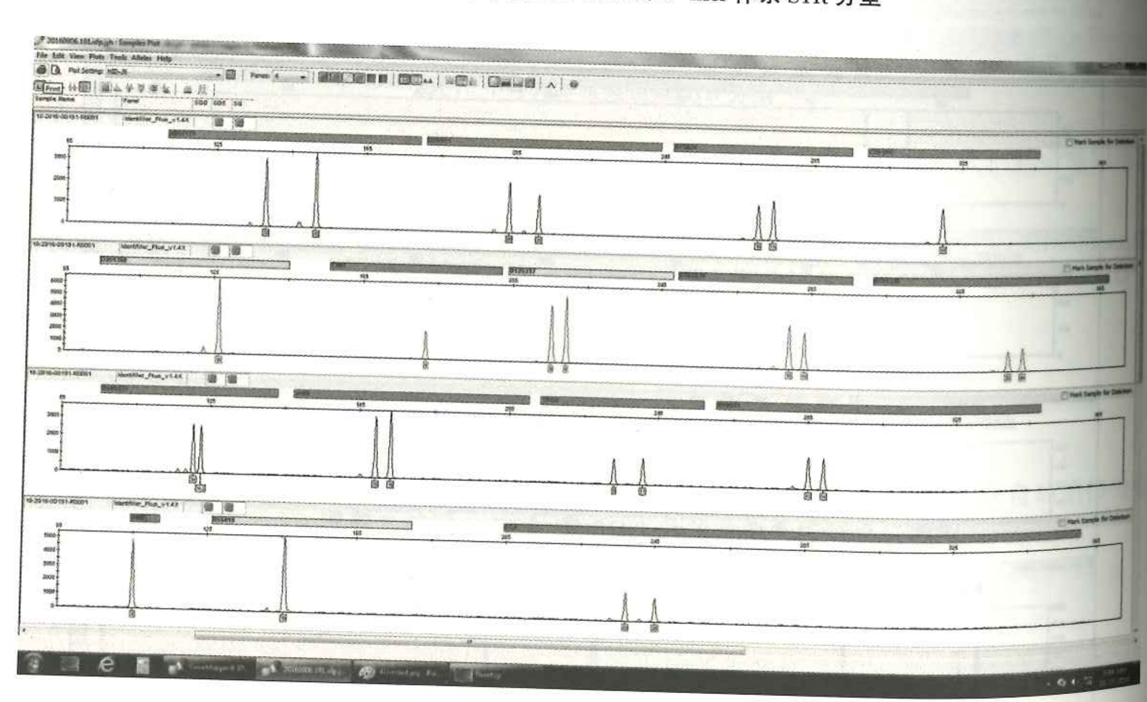


图 4　3 号样本常染色体 STR 分型

Y-STR 见 DYS456、DYS393 两个基因座检出分型，其余各基因组均未检出分型结果，如图 5 所示：

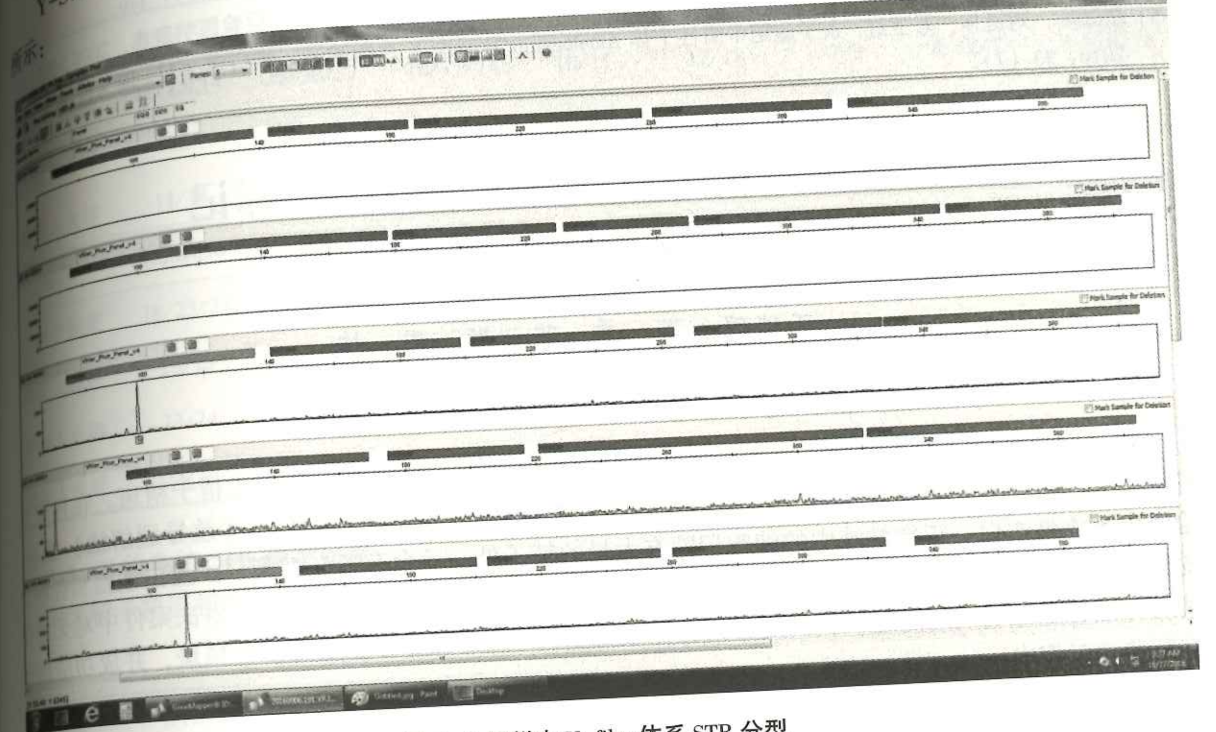


图 5　3 号样本 Y-filer 体系 STR 分型

2　分析、讨论

目前应用聚合酶链反应（PCR）技术进行性别鉴定，是针对 Amelogenin 基因内含子 1 区 X 染色体 6bp 缺失的特征，采用一对 X-Y 同源性引物进行扩增，男性个体同时得到 2 种 Amelogenin 基因片段，即 X 片段（Amel-X，106bp 或 212bp）和 Y 片段（Amel-Y，112bp 或 218bp），女性个体只得到一种 Amelogenin 基因片段，即 X 片段（Amel-X，106bpak 212bp），上述 2 例男性样本中，在常染色体试剂盒扩增检验中 Amelogenin 基因片段未检验 Y 峰，但 Y 染色体试剂盒扩增检验中，能正常检出部分 Y 染色体基因座分型，说明并非是模板 DNA 降解引起的 Amelogenin 基因座中 Y 特异性片段异常，其最可能的原因是该片段 Y 染色体的重复序列发生删减突变，导致引物结合的位置发生变化，造成了 Y 特异性片段缺失，对此，还需针对 Amelogenin 基因座重新设计不同的引物，进一步研究证实。

由于扩增 Amelogenin 基因进行性别鉴定的方法快捷简便，灵敏度高，所以是目前法医 DNA 检验上最常用的技术，几乎全部试剂厂商也在常染色体检验试剂盒中集成了 Amelogenin 基因座，用于性别标记，这些试剂被公安机关物证鉴定部门广泛应用于法医亲子鉴定、个体识别和 DNA 数据库建设当中，尤其是在对现场物证的检验中，以 Amelogenin 基因座分型结果 X/X 和 X/Y 来判断性别，已被广泛应用。但从上述 2 例来看，男性个体的性染色体的 Amelogenin 基因座发生 Y 特异片段缺失情况，如果仅仅依据 Amelogenin 基因座的分型结果，则会导致我们在鉴定中对性别的误判。基因分型缺失现象应当受到重视，判断性别，不能仅仅依据 Amelogenin 这一个基因座的分型结果，而应当以 Y 染色体分型结果为依据，从而避免引起错误判断。

【参考文献】

[1] 周家荣，张思仲. 人类性别决定基因研究进展［J］. 中华医学遗传学杂志，1993，10（4）：222.

[2] 郑秀芬. 法医 DNA 分析［M］. 北京：中国人民公安大学出版社，2002.
[3] 李向阳，李红霞. Y 染色体 Amelogenin 基因变异 1 例［J］. 中国法医学杂志，2007，22（5）：349.
[4] 陈勇，孙宏钰，陈爱萍，等. X 染色体 Amelogenin 等位基因缺失的研究［J］. 中华检验医学杂志，2008，31（4）.
[5] 胡锡阶，刘祖林，万卫红. 亲子鉴定中男性个体 Amelogenin 基因座 X 片断缺失一例报道［J］. 遵义医学院学报，2010，33（1）.

联合应用常染色体 STR 和 YSTR 标记鉴定无精子精斑案例

王瑞瑞，张　勇，张　颖，周　栋
（宁夏回族自治区银川市公安局物证鉴定所，750001）

精斑中无精子（抗人精试验结果为阳性，但显微镜下找不到精子）称为无精子精斑。在性侵案件中，有时也会遇到无精子精斑，如果对此种物证如沿用常规的精斑二步法（差异裂解法）提取，检测结果将是空白。正常精液中的细胞记除有大量的精子外，还会有睾丸细胞、少量白细胞和各种上皮细胞（来自输精管、精囊、前列腺腺管和尿道等器官的脱落上皮细胞）。为了解决案件中对无精子精斑无法确定嫌疑人的问题，我们用常染色体 STR 和 Y-STR 联合标鉴定无精子精斑，并成功应用于实际鉴定工作中。

1　案例资料

2016 年 1 月，宁夏永宁县望远镇犯罪嫌疑人马某在杨某家中将杨某强奸，案发后犯罪嫌疑人马某拒不承认强奸行为。现勘人员提取了受害人杨某的内裤与犯罪嫌疑人血样、受害人血样一并送检。

2　检验方法

2.1　仪器和试剂

9700 型 PCR 扩增仪，3500XL 型 DNA 测序仪。试剂 Identifiler Plus 位点系统；Yfiler Plus 位点系统等试剂。

2.2　步骤方法

（1）将送检内裤上可疑斑迹处剪碎置 1.5mL 离心管中，加 1000μL 超纯水浸泡 3min，其间用旋涡混匀器震荡 2 次，做抗人精预实验，结果为阳性。

（2）涂片在显微镜下观察，找不到精子，确定为无精子精斑。

（3）离心去除上清液，用 kinfisher 试剂盒直接提取 DNA 。

（4）用 AmpFLSTR® Identifiler™ 系统以 10μL 体系扩增，循环参数按 AmpFlSTR® Identifiler™ kit user's manual[3] 中的条件。

（5）按 AmpFlSTR Identifiler kit user's manual，扩增产物用 3500XL 型测序仪检测。

3　结果

3.1　常染色体 STR 检测结果

对无精子精斑进行 16 位点常染色体 STR 检测，检出满意的混合 DNA 分型，该混合分型包含嫌疑人与受害人提供的血样 DNA 分型（见表 1）。

表 1

检材	D8S1179	D21S11	D7S820	CSF1PO	D3S1358	TH01	D13S317	D16S539
无精子精斑	11/13/14	29/30/32	10/11/14	10/11	17/18	7/9	8/12/13	8/910/12
嫌疑人血样	13	29/30	10/11	10/11	17/18	9	8/13	8/9
受害人血样	11/14	30/32	11/14	10/11	17	7/9	12	10/12

检材	D2S1338	D19S433	vWA	TPOX	D18S51	D5S818	FGA	Amelogenin
无精子精斑	18/23/24	13/14/15.2	15/16/17/19	8/11	13/15/19	11/13	19/24/26/27	X/Y
嫌疑人血样	18/23	13/14	17/19	8	13/15	13	26/27	X/Y
受害人血样	23/24	14/15.2	15/16	8/11	13/19	11	19/24	X
受害人血样	23/24	14/15.2	15/16	8/11	13/19	11	19/24	X

3.2　Y 染色体 STR 检测结果

对无精子精斑和嫌疑人血样进行 Y 染色体 STR 检测，两份样本检出的结果一致（见表 2）。

表 2

检材	DYS576	DYS389I	DYS635	DYS389II	DYS627	DYS460	DYS458	DYS19	GATA H4
无精子精斑	17	12	23	29	22	11	17	14	12
嫌疑人血样	17	12	23	29	22	11	17	14	12

检材	DYS448	DYS391	DYS456	DYS390	DYS438	DYS392	DYS518	DYS570	DYS437
无精子精斑	19	11	14	23	11	16	37	18	15
嫌疑人血样	19	11	14	23	11	16	37	18	15

检材	DYS385	DYS449	DYS393	DYS439	DYS481	DYF387S1	DYS533
无精子精斑	11/13	30	12	10	20	36	11
嫌疑人血样	11/13	30	12	10	20	36	11

4　讨论

随着现代社会发展，越来越多的已育男性去作输精管结扎术，已达到健康避孕的目的。也有些男性会患无精症。这在检案中，就会常遇到无精子精斑的强奸案，给确定犯罪嫌疑人带来一定困难，特别是混合男女脱落细胞的检材，更是对 DNA 检验人员的考验。因而解决无精子精斑的 DNA 检验难的问题，对侦查破案工作有十分重要的意义。

在对强奸案件混合斑的检验过程中，检验人员对精斑的确证实验往往采用简便、快捷的前列腺特异性抗原 PSA 金标试剂条检验。利用精子染色液进行显微镜镜检并没有得到技术人员的足够重视，过分依赖 PSA 试剂条会导致无精子案件的误判，如果继续用二步法提取，将毫无结果。因此，对无精子精斑需将显微镜镜检的结果作为检验方案中重要的一部分。正常的精液包含精子和精浆两部分，而无精者，其“精液”中虽不含精子，但有来自精囊、前列腺腺管和尿道等的脱落上皮细胞，对这

些细胞成分进行 DNA 分型检验是完全可行的。

本文中的案例，检验的样本是受害人与犯罪嫌疑人的混合斑，直接裂解提取检出的混合 DNA 分型包含犯罪嫌疑人马某的 DNA 分型和受害人杨某的 DNA 分型。本实验还辅助以 Y 染色体 STR 检验获得单一、一致的男性 Y-STR 分型，综合以后，可以确定马某是本案的犯罪嫌疑人。这样的检验也弥补了以往方法的不足，拓宽了检验范围，且检验结果易被法庭作为证据采纳，也确实能解决基层实战部门的办案检验要求。

【参考文献】

[1] 郭景元，李伯龄. 中国刑事科学技术大全法医物证学［M］. 北京：中国公安大学出版社，2002：949.
[2] 万立华，修崇贤，刘春，等. 重庆地区汉族群体 Amelogenin 及 9 个 STR 位点的群体遗传学调查［J］. 中国法医学杂志，1999，15（4）205-210.
[3] AmpFLSTRRIdentifilerTM（PCR amplification kit User'Manual）［Z］. USA：Applied Biosystems Corporation.

论滤纸型血样采集卡标准化的必要性

董　雷，任　博
（新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市公安局刑科所，830063）

随着 DNA 数据库的快速发展。全国各地都在大力发展人员样本库，为我国打击犯罪和维护稳定提供新的支撑。随着直接扩增技术的发展，滤纸型血样采集卡由于成本低，易保存等特点迅速普及，本文就滤纸型血样采集卡（以下简称采集卡）在实际工作中发现的问题以及初步解决方案进行讨论。

1　采集卡尺寸的问题

目前市面上的样本采集卡多种多样，大小规格不同，对于检验单位的存放造成了困难。对于大规模建库的省级以及地市级 DNA 室，采集卡来源往往是基层县市。很多基层单位血样采集卡都是通过当地政府采购招标方式购入，造成各地送检血样采集卡尺寸各不相同。DNA 实验室存放与保管往往因为尺寸差异造成存储空间不能充分利用，形成了不必要的浪费。

以乌鲁木齐为例，在规定采集卡尺寸前，基层分县局自购的采集卡尺寸不同，仅包装盒就有三种大小，在 DNA 室血样存储室存放时浪费了不少的空间，造成了设计存放 50 万张血样的库房存放了 40 万的血样。后期，乌鲁木齐市规定基层单位采购血样采集卡时，对大小和包装进行了限制，后期血样采集卡存放变得规范整齐，易于查找。

2　滤纸卡厚度的问题

市面上存在滤纸型血样采集卡种类繁多，市面常见滤纸采集卡中滤纸的厚度为 0.8～1.5mm，灰度 0.1～0.2%，不同公司生产的血样采集卡所采用滤纸的厚度不同，在利用同口径打孔器打孔时，血片的厚度不同，造成样本浓度的变化，对于小体系建库的单位，特别是经费困难需要 5 微升建库的单位，往往造成不同品牌血样采集卡，同时进行打孔，扩增，最终检测效果不同的现象，这些采集卡需要重新检验，造成了不必要的试剂浪费。

3　采集卡的生产的问题

公安 DNA 数据库所使用的采集卡在加工生产过程中，尚未发现相关的技术标准和行业规定，例

如，生产车间的洁净度，万级、十万级的都有。滤纸的抗菌能力、防腐能力也没有明确的限定。是否需要添加其他成分等等都缺乏制度依据，造成滤纸型采集卡生产门槛低，很多厂商跟风生产，产品质量良莠不齐，对实际工作造成不良影响。

4　建议

首先，有关部门应建立一套标准，对血样采集卡的尺寸以及外包装的尺寸进行规范。当前市面上 DNA 数据库建设中常见的主要采集卡的两种形状（双环型和单环型），建立单环、双环两类尺寸标准，对尺寸进行规范，可以适当划分一个正负误差。这样，各地 DNA 室在建议基层单位购买采集卡时可以根据自身实验室物证保管的条件，要求购买单环型或双环型，只限定采集卡类型，不限定采集卡品牌，就如同大家购买插座一样，无论什么牌子都是通用的。

其次，对于滤纸厚度、灰度、有效采血面积进行规范。同样可以制定一个范围，让生产商的采集卡滤纸参数基本一致，制定普通型，超薄型，加厚型等，这样，无论基层单位送检何种品牌的采集卡，DNA 实验室都有成熟的检验体系，节省试剂，提高效率。

最后，对生产环节以及产品质量进行要素把控。特别是生产车间的洁净度、温湿度，生产商所必需的资质，产品的抗菌防腐能力，最低保质期都制定规范，限制准入门槛，杜绝小厂跟风生产不达标产品，鱼目混珠。

相信制订了相关标准之后，整个公安 DNA 建库工作都会得到一个提升。

凶器上脱落细胞 DNA 提取及检验方法初探

张宏华[1]，吕传强[2]
（1. 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市公安局刑科所，830063；
2. 新疆维吾尔自治区吐鲁番市公安局刑科所，838000）

随着社会的发展，在众多的刑事案件中犯罪分子的反侦察能力日益增强，其在作案过程中大多数时间都已经懂得了采取防范措施（如戴手套、口罩头套、脚套等），从而使犯罪现场留下的有价值的痕迹物证较少，增加了案件确证难度。然而在我们日常受理的杀人案中，有一类属于激情杀人案件，犯罪嫌疑人因突发事件的刺激，在现场选择顺手的工具对受害人进行攻击直至死亡，整个过程行事慌张且反侦察意识不强，所以理论上在作案工具上留下 DNA 的可能性非常大。但同时，这些被选择的工具通常都是事发现场或受害人的东西，上面附着的 DNA 会影响我们的检验，如果抓握处沾染了受害人血迹（对于沾染了犯罪嫌疑人血迹的凶器不列入我们讨论范围内），就更加大了犯罪嫌疑人 DNA 检验的难度。

1　案例简介

2013 年 9 月，刘某在某家属院其住房内被杀，属钝器多次击打头部致死。据走访了解到死者 1932 年生，独居，每天会拿一木棍上街捡废物，而该木棍正是打死老人的凶器。分局技术室人员前后送检 6 批次共六十余份生物检材，包括凶器木棍上八处擦拭物，经检验均为死者 DNA。案件上也没有提取到任何一枚指纹，案件侦破毫无方向。

2 物证分析与检验

2.1 物证分析

实验室工作人员对案件生物物证分析研究后，将检验重点锁定在凶器木棍上，于是要求分局送检木棍原物。仔细观察，该木棍一米余长，一端有大量血迹，另一端没有血迹的应该是嫌疑人抓握端，应重点提取。

2.2 DNA 初筛，提取和检验

在抓握部位分区标记，用专用提取棉签进行两步擦拭法提取，共提取了十处。剪取棉签擦拭部位入 Automate 专用提取离心管上部管中，加入 220μL 裂解液、7μLpk、3μL DTT，置 56℃恒温混匀仪中裂解消化 2h。13000rpm 离心 3min，弃上部管，取下部离心管（含消化液）放入 Automate（美国 ABI 公司，疑难提取仪）进行自动化磁珠提取纯化。按照 Identifiler-plus 试剂盒说明书配制 PCR 反应液，其中取反应液混合物 6μL 和模板 DNA4μL，在 Eppendorf 梯度扩增仪上扩增，95℃ 11min，94℃ 20s~59℃ 3min~28cycles，60℃ 10min，25℃。在 3130XL 型基因分析仪上检测，用 GeneMapper ID-X 软件进行 STR 分析。检验结果显示其中九处为死者所留，只有距端部 10 厘米的一处擦拭物是另一男性（见图 1），但只能辨认几个位点，其他位点不能确认。

将可辨认的几个位点数据录入全国 DNA 数据库，进行本地库快速比对，同一个体和亲缘比对均未比中。

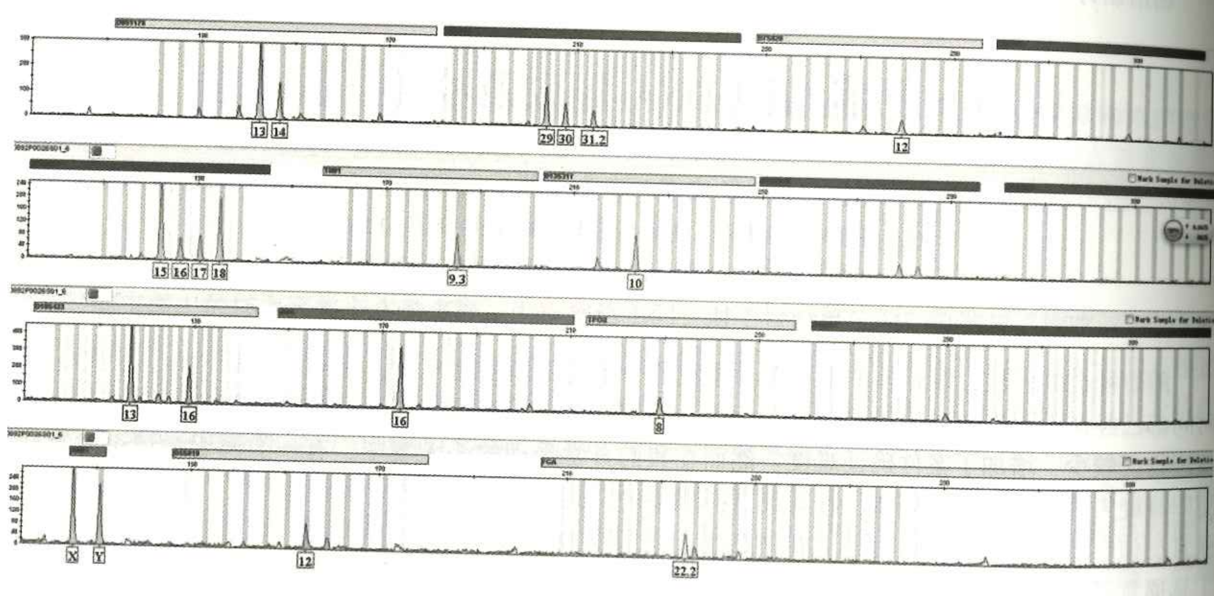


图 1 DNA 初筛检出另一男性

2.3 DNA 富集，再次提取和检验

纯化时，磁珠颗粒的独特结构以及复合化合物成分的表面，具有较好的 DNA 结合能力和 DNA 回收能力，在洗涤过程去除 PCR 抑制剂的同时，能保持与 DNA 的稳定结合，洗脱时，能够确保从磁珠颗粒上分离出最大产量的纯化 DNA。结合图 1 分型，我们分析，应该是 DNA 总量太少造成了结果不理想，所以再次提取应先富集 DNA。笔者在上述区域用两步擦拭法和胶带粘取法反复提取，将擦拭棉签和粘取胶带剪入同一离心管中，用相同方法进行提取纯化、扩增、检测，终于检出一完整男性分型（见图 2）。迅速将该线索报分局，侦察人员遂开始大量排查犯罪嫌疑人，最终比中一排查人员。本案件顺利告破！

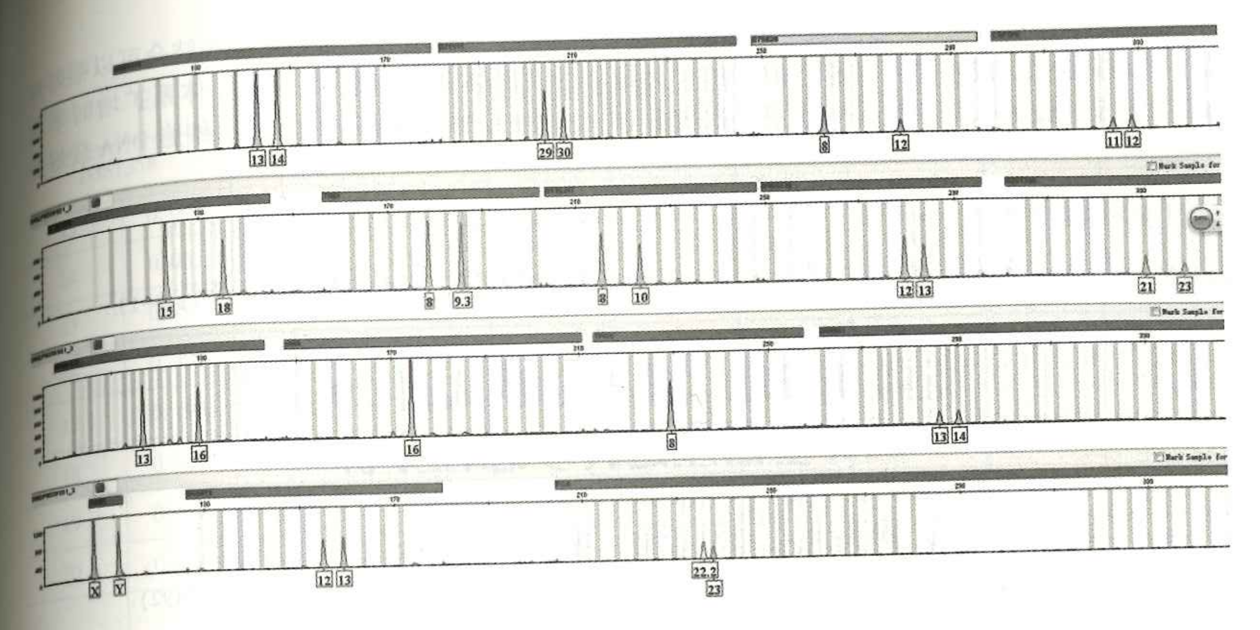


图 2 再次提取获得嫌疑人分型

3 讨论

3.1 根据凶器的实际情况选择合理提取方法

对于沾染了受害人血迹的凶器，在抓握处提取时需要避开血迹小面积提取，以棉签提取处看不出血色为宜。因为有些凶器抓握处颜色和质地的影响，虽然肉眼看不出血迹颜色，但用提取棉签擦拭后就能清楚看出血色。所以，在这一类凶器抓握处提取犯罪嫌疑人 DNA 时，可采用小面积分块提取法，最好的一种是提取后没有血色的检材，其次是提取棉签有淡血色处的再次提取检材。

对于没有血迹的凶器，在抓握处提取时要分段分块小面积提取，提取时标记很重要，以利于初筛结果之后的再次提取。提取时可以用提取棉签直接提取，更方便的方法是用镊子撕取棉签上的一小缕棉花，擦拭后可以直接放入离心管中开始检验，这种方式一定要保证镊子的干净，可以避免棉签提取时剪刀剪取的步骤和再次污染可能。如果是凶器抓握处表面不够平整光滑的，可以采用棉签提取和粘取提取结合的方式。

本案中，木棒上遗留有较多的死者 DNA，我们要从中获得犯罪嫌疑人的 DNA，相较而言，检验难度就更高，如第一次提取的九处均为死者 DNA。而本案中犯罪嫌疑人作案时需反复摩擦木棒，会在抓握处留下较多的脱落细胞，且较新鲜，相对死者 DNA 的量应该会多些，所以得以成功检验。

3.2 接触性检材上的脱落细胞有效提取并检验是关键

本案中的木棍，其特殊性在于它是死者经常使用的东西，对犯罪嫌疑人脱落细胞的转移产生较大影响。笔者认为对此类检材的提取检验应注意以下方面：

进行初步提取筛查，确定正确提取部位。在检材表面准确找到接触部位并不容易，Lennard 等借助多波段光源、Sewell 等利用指纹显现方法，都是为了寻找接触部位以便于提取脱落细胞，但这些方法在实际案件中并不实用。像本案中这种作案工具，半米多长的抓握部表面积较大无法具体判断抓握处，此时应将物证分区分段标记，用两步擦拭法进行盲擦筛查。又因混合样本中，较少成分所占比例小于 1/20~1/10 时，通常无法检测到，所以擦拭时分区分段面积不宜过大且力度不易过大，防止死者遗留 DNA 的影响造成 DNA 漏检。有意义的初筛检验会获得较理想嫌疑人分型：结果是混合分型或主峰为非死者的分型时，均可对照死者 DNA 进行嫌疑人数据的判断。

再次提取检验的方法。如本案初次提取结果，分析可能是因为转移的 DNA 含量太少造成丢峰、

出峰不均衡，所以对该处再次提取富集 DNA。笔者认为两步擦拭法和胶带粘取法相结合可以很好地富集到足量 DNA，成功进行转移。磁珠纯化时最后的洗脱体积适当减少，10μL 体系扩增时采用 6μL 混合反应液加 4μL 模板 DNA，循环次数由 28 次增加到 30 次，都是检验脱落细胞 DNA 较好的方法。

【参考文献】

[1] 张广峰，陈松，凃政，等. 接触 DNA 检验成功率的影响因素探讨 [J]. 刑事技术，2013 (230)：9-13.

新疆和田地区维吾尔族人群 20 个 STR 基因座遗传多态性分析

许海燕[1]，吾日古丽・买塞地[1]，刘金杰[2]
（1. 新疆维吾尔自治区和田地区公安局刑科所，848000；2. 北京市公安局法医中心，100192）

中国新疆和田地区是维吾尔族人群的聚集地区，STR 遗传多态性特点明显，本文对该人群 20 个常染色体 STR 基因座进行遗传多态性调查，为法医学个体识别、亲权鉴定以及群体遗传学研究等提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 样本来源

收集 644 份和新疆田地区维吾尔族无关健康个体血痕样本，其中男 508 例，女 136 例，均从本实验室抽取。

1.2 DNA 分型检验

取 1.0mm 直径圆片血样，使用 Power Plex 21 System 试剂盒（Promega 公司），在 9700 型扩增仪（美国 AB 公司）上进行直接扩增。扩增体系 10μL，热循环条件：96℃ 1min；94℃ 10s，59℃ 1min，72℃ 30s，共 25 个循环；60℃ 20min。扩增产物在 3500XL 遗传分析仪（美国 AB 公司）上进行毛细管电泳；使用 Gene Mapper IDX3.2 软件对电泳结果进行基因分型。

1.3 统计学分析

应用 Powerstars v1.2 分析软件计算 20 个 STR 基因座的基因频率，并进行 X2 检验和 Hardy-Weinberg 平衡检验；计算各基因座杂合度（H）、个体识别能力（DP）、匹配概率（PM）、非父排除概率（PE）和多态性信息含量（PIC）等法医遗传学参数。

2 结果与讨论

644 名维吾尔族个体 20 个 STR 基因座共检出 244 个等位基因。各基因座遗传学参数值范围：基因频率 0.001~0.518，H 值 0.641~ 0.932，DP 值 0.875~0.972，PIC 值 0.59~0.92（见表 1、表 2）。所有基因座基因型频率均符合 Hardy-Weinberg 平衡（$P>0.05$）。调查结果显示，20 个基因座中除 D5S818、D3S1358、CSF1PO、TPOX 4 个基因座外，其余 14 个均为高鉴别力基因座。20 个基因座累积个体识别能力达到 0.99 999 999 999 999 999 999 999999403，累积非父排除概率达到 0.999999998，表明该检测系统可满足维吾尔族人群体个人识别和亲权鉴定的需要。

表 1　新疆和田 20 个 STR 基因座等位基因频率分布表
（群体调查样本量 $n=644$）

D3S1358		D16S539		D13S317		D5S818		TPOX	
13	0.001	8	0.019	7	0.005	7	0.005	7	0.004
14	0.061	9	0.213	8	0.172	8	0.002	8	0.518
15	0.297	10	0.112	9	0.108	9	0.051	9	0.107
16	0.331	11	0.276	10	0.142	10	0.106	10	0.050
17	0.195	12	0.227	11	0.266	11	0.366	11	0.269
18	0.106	13	0.129	12	0.218	12	0.311	12	0.044
19	0.010	14	0.023	13	0.071	13	0.152	13	0.007
20	0.001	15	0.002	14	0.017	14	0.007	14	0.001
						15	0.001		
						16	0.001		

vWA		TH01		CSF1PO		D7S820		D8S1179	
13	0.005	6	0.187	8	0.005	7	0.017	8	0.012
14	0.143	7	0.239	9	0.034	8	0.196	9	0.014
15	0.076	8	0.102	10	0.252	9	0.075	10	0.112
16	0.207	9	0.297	11	0.281	10	0.215	11	0.069
17	0.268	9.3	0.164	12	0.339	11	0.267	12	0.113
18	0.212	10	0.011	13	0.075	12	0.186	13	0.278
19	0.078	11	0.001	14	0.012	13	0.040	14	0.217
20	0.010			15	0.002	14	0.005	15	0.122
21	0.001							16	0.059
								17	0.003
								18	0.001

D2S1338		Penta_D		D19S433		D12S391		D1S1656	
16	0.009	6	0.007	10	0.004	15	0.018	11	0.103
17	0.101	7	0.014	11	0.004	16	0.015	12	0.079
18	0.108	8	0.013	12	0.068	17	0.096	13	0.082
19	0.177	9	0.297	12.2	0.005	17.3	0.008	14	0.083
20	0.127	10	0.141	13	0.248	18	0.222	15	0.236
21	0.029	11	0.198	13.2	0.040	18.3	0.004	15.3	0.016
22	0.056	12	0.141	14	0.282	19	0.201	16	0.189
23	0.154	13	0.127	14.2	0.056	20	0.130	16.3	0.029
24	0.113	14	0.048	15	0.107	21	0.123	17	0.071

续表

D2S1338		Penta_D		D19S433		D12S391		D1S1656	
25	0.092	15	0.012	15.2	0.095	22	0.094	17.3	0.060
26	0.032	16	0.003	16	0.049	23	0.054	18	0.012
27	0.002			16.2	0.034	24	0.019	19	0.026
29	0.001			17	0.007	25	0.012	20	0.011
				17.2	0.002	26	0.004	20.3	0.001
								21	0.002
D18S51		**D6S1043**		**D21S11**		**FGA**		**Penta_E**	
8	0.001	8	0.005	26	0.002	13	0.001	5	0.042
9	0.001	9	0.005	27	0.008	15.2	0.004	7	0.068
10	0.008	10	0.021	28	0.099	17	0.003	8	0.012
11	0.012	11	0.225	28.2	0.004	18	0.006	9	0.009
12	0.071	12	0.158	29	0.225	19	0.050	10	0.058
13	0.185	13	0.095	29.2	0.005	20	0.071	11	0.117
14	0.210	14	0.109	30	0.274	20.2	0.002	12	0.123
15	0.161	15	0.007	30.2	0.030	21	0.158	13	0.082
16	0.112	16	0.003	31	0.071	21.2	0.001	14	0.066
17	0.091	17	0.047	31.1	0.001	22	0.163	15	0.075
18	0.051	18	0.144	31.2	0.092	22.2	0.009	16	0.099
19	0.032	19	0.130	32	0.017	23	0.203	17	0.075
20	0.030	20	0.039	32.2	0.127	23.2	0.008	18	0.064
21	0.019	20.3	0.001	33	0.002	24	0.190	19	0.047
22	0.012	21	0.010	33.2	0.040	24.2	0.002	20	0.030
23	0.002	21.3	0.002	33.3	0.001	25	0.097	21	0.017
24	0.001			34.2	0.003	25.2	0.002	22	0.011
25	0.001					26	0.019	23	0.006
						27	0.010	24	0.001
						28	0.001	25	0.001
								26	0.001

表 2　20 个 STR 基因座各遗传学参数统计结果

序号	基因座	H	PIC	DP	PM	PE
1	D8S1179	0.825	0.81	0.948	0.052	0.645
2	D21S11	0.842	0.81	0.950	0.050	0.678
3	D7S820	0.803	0.77	0.931	0.069	0.604
4	CSF1PO	0.731	0.69	0.883	0.117	0.478
5	D3S1358	0.741	0.71	0.898	0.102	0.494
6	TH01	0.780	0.75	0.917	0.083	0.562

续表

序号	基因座	H	PIC	DP	PM	PE
7	D13S317	0.792	0.79	0.940	0.060	0.584
8	D16S539	0.776	0.77	0.930	0.070	0.556
9	D2S1338	0.887	0.87	0.972	0.028	0.768
10	D19S433	0.825	0.81	0.950	0.050	0.645
11	vWA	0.770	0.78	0.938	0.062	0.545
12	TPOX	0.641	0.59	0.819	0.181	0.343
13	D18S51	0.874	0.85	0.966	0.034	0.743
14	D5S818	0.773	0.69	0.875	0.125	0.550
15	FGA	0.835	0.84	0.961	0.039	0.666
16	Penta D	0.828	0.79	0.939	0.061	0.651
17	Penta E	0.932	0.92	0.987	0.013	0.860
18	D12S391	0.857	0.84	0.962	0.038	0.709
19	D6S1043	0.857	0.85	0.966	0.034	0.709
20	D1S1656	0.832	0.85	0.970	0.030	0.660

注：H：杂合度；PIC：多态性信息总量，DP：个人识别能力；PM：偶合率；PE：非父排除率。

【参考文献】

[1] 姚伊人，赵兴春，白雪，等. 新疆和田地区维吾尔族人群 18 个 STR 基因座遗传多态性［J］. 中国法医学杂志，2015，3（30）：295-296.

[2] 图尔逊・尼亚孜比力盖，古力娜尔・库尔班，张丽萍. 新疆维吾尔族 20 个 STR 基因座遗传多态性［J］. 中国法医学杂志，2012，2（27）：138-140.

[3] John M. Butler. 法医 DNA 分型：STR 遗传标记的生物学、方法学及遗传学［M］. 侯一平，刘雅诚主译. 北京：科学出版社，2007.

[4] Power Stats. http://www.promega.com/geneticid tools/[cp]. 1999.

[5] 郑秀芬. 法医 DNA 分析［M］. 北京：中国人民公安大学出版社，2001.

27 重 SNP 种族推断体系在日常检案中的应用

张　涛[1]，冯保强[1]，周　浩[1]，马　咪[2]，刘海渤[1]

（1. 新疆生产建设兵团公安局，830002；

2. 新疆生产建设兵团第七师公安局，833200）

前言

近年来，新疆地区暴恐犯罪频发，直接造成了大量公私财产的毁损以及人民群众的伤亡，随着犯罪地点由新疆地区向疆外内地延伸，暴恐犯罪在全国范围内掀起了一阵恐慌。进一步挖掘犯罪现场 DNA 样本所蕴含的遗传信息，获取种族、地域来源等信息，是法医遗传学领域极为重要的研究方向。对案件中未能比中数据库中已知人员的现场 DNA 进行种族推断对案件定性和人员排查等案件侦破工作有很大的帮助。

公安部物证鉴定中心构建的 27 重 SNP 种族推断体系，使用毛细管电泳检测技术，可在普通法医学实验室开展应用，运用于种族推断，并进一步对生物检材来源人的面貌特征等信息进行初步判断；

该体系灵敏度较高，以等位基因峰高低于 200RFUs 视为等位基因丢失为标准；浓度最低为 0.1ng/μL 时 27 个位点等位基因均可正确判型；且 SNP 基因座的长度短，更易进行 PCR 扩增，并且产物的长度不到 100bp，与 300~400bp 的 STR 相比能够更好地耐受降解的 DNA 样本。这构成了体系易于开展应用、灵敏度高、可用于降解检材的特点。

新疆地处亚洲中部，新疆人群具有东西方人混合的外貌特征。对维吾尔族人群全基因组分析显示为典型的欧洲/东亚混合祖先，两者的成分非常接近（50%/50%），使用 27 重 SNP 种族推断体系获得的分析结果（50.3%/59.7%）与之一致，并能有效地与东亚成分为 99.285%的汉族区分开。哈萨克族与柯尔克孜族从外貌来看，这两个人群比维吾尔族人更具有东亚人特征，使用 27 重 SNP 种族推断体系获得的分析结果，这两个人群相比维五尔族有较高的东亚祖先成分（分别为 0.598 和 0.567）。生活在新疆的塔吉克族人，属于印欧语系分支的伊朗语系，使用 27 重 SNP 种族推断体系获得的分析结果，此人群中欧洲血统成分较高（68%/27%，欧洲/东亚），同样也能与属于东亚人种的汉族人区分开。

1 基本案情

27 重 SNP 种族推断体系引进到兵团公安局司法鉴定中心以来，在一些日常案件检验中进行了应用，对 STR 分型为单一个体且在数据库中未比中人员的现场检材 DNA 使用 27 重 SNP 种族推断体系进行种族推断。

1.1 案例一

2016 年 3 月某垦区内发生一起爆炸案，现场遗落有小气罐、电瓶、钢管堵头、遥控器、电线和胶带等疑似爆炸装置残留物。后在对现场检材进行 DNA 检验中检出多个嫌疑人 STR 和 Y 分型，但在数据库中均未比中人员。其中现场遥控器按钮上检出清晰单一的女性分型，在排除现场和实验室人员污染后，决定使用 27 重 SNP 种族推断体系对该 DNA 进行扩增检测。

1.2 案例二

2016 年 3 月某垦区送检了两起无名尸案件，检材分别为蓄水池中尸体肋软骨和沙漠中已白骨化的股骨，白骨化股骨经 IDplus 试剂扩增检测，图谱分型前高后低（见图 1），判断检材 DNA 已降解。后续将该分型和肋软骨 STR 分型在数据库中比对未比中人员，决定使用种族推断体系进行检测，以缩小后续排查范围。

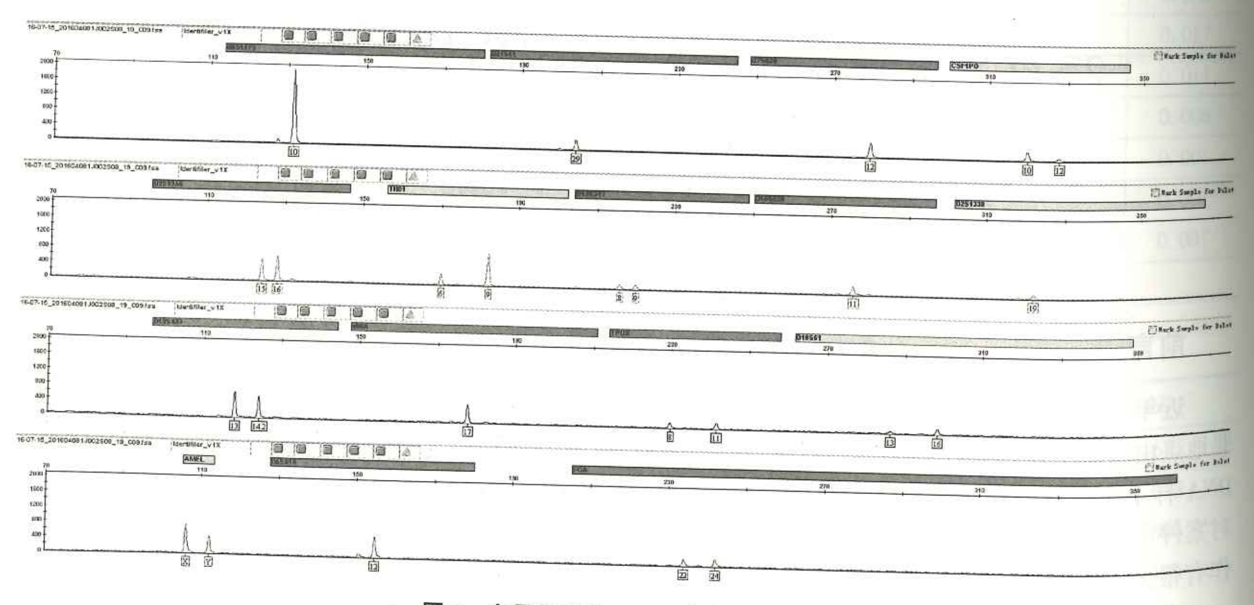


图 1 白骨化股骨 IDplus 电泳检测图谱

1.3 案例三

2016 年 5 月某垦区连续发生的盗羊案件，在当地造成严重影响，在现场提取的卫生纸上检出 STR 分型，但未比中人员，后续对该 DNA 使用种族推断体系进行检测。

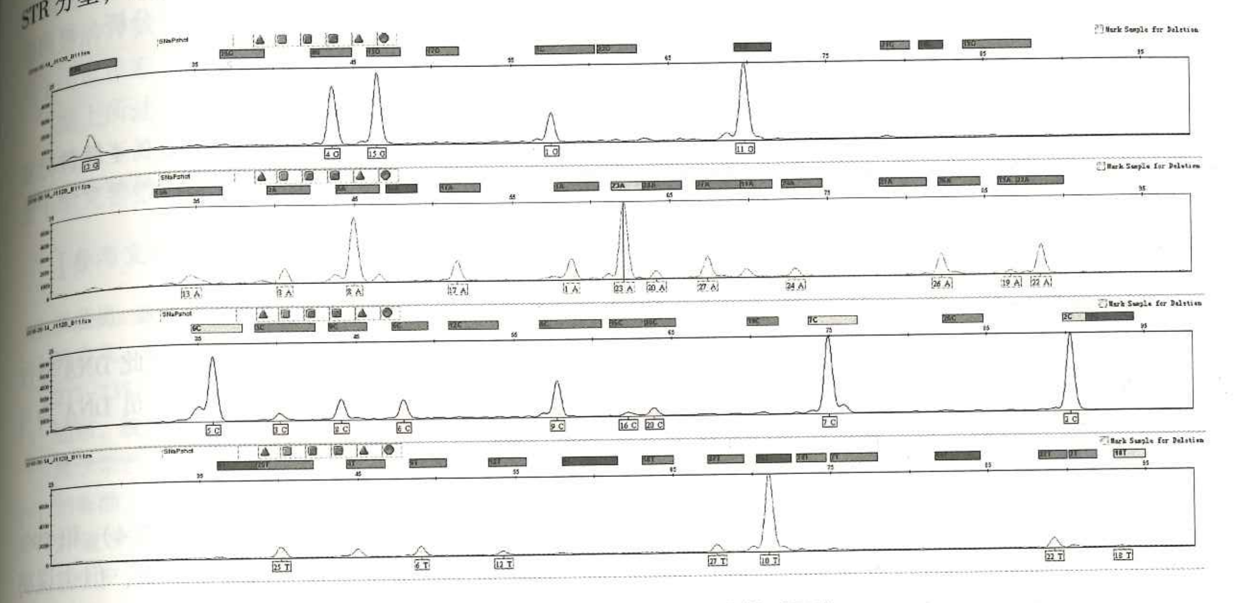


图 2 27 重 SNP 种族推断体系电泳检测图谱

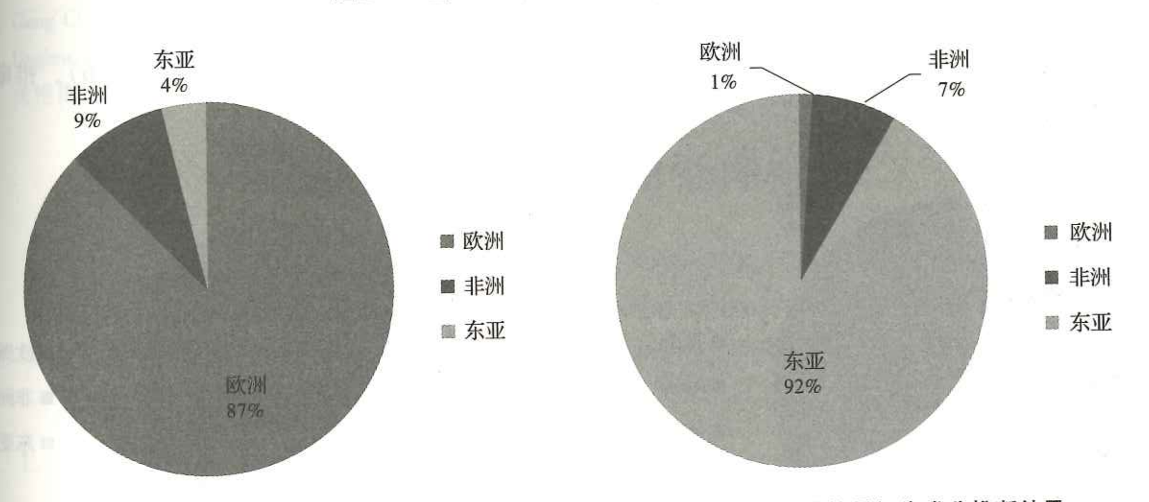


图 3 遥控器按钮祖先成分推断结果

图 4 肋软骨祖先成分推断结果

2 检验与分析

2.1 提取

案例一中遥控器按钮，使用拭子干湿两步擦拭转移后，使用常规手工 M48 提取法对转移拭子进行提取后 4℃保存备用；案例二中白骨化股骨使用手工 M48 法提取 4℃保存备用，肋软骨使用 Chelex100 法提取备用；案例三中卫生纸使用 Chelex100 法提取备用。

2.2 扩增、检测

扩增使用 SNaPshot Multiplex 试剂盒（Life technologies，美国）5μL 反应体系，在 Eppendorf Por s 仪上进行。反应程序 95℃ 5min 后，94℃ 30s，55℃ 30s，72℃ 1min，共 40 个循环。加入 3μL 纯化体系（含 1U/μLSAP 1μL）37℃ 60min，96℃ 10min 进行纯化。纯化后的产物进行延伸反应，延伸程序

为 96℃ 10s，50℃ 5s，60℃ 30s，25 个循环；延伸产物再次纯化，纯化程序为 37℃ 60min，75℃ 15min。使用 GeneScan-120Liz Size Standard（ABI）作内标，取 1μL 产物与 9μL 含有 Liz 的甲酰胺混合，上样。

检测使用 ABI 3100XL 型自动遗传分析仪进行电泳，使用 Genemapper IDX 1.2 软件分析，得到样本分型（见图 2）。

2.3 数据分析

使用 Forensic Intelligence V1.1 软件进行群体匹配概率 MP 值计算，使用 Structure2.3.4 软件计算祖先成分。综合分析 MP 值和祖先成分进行最终判断。

3 结果

3.1 案例一

计算结果显示遥控器按钮上 DNA 祖先成分欧洲成分占比为 87%（见图 3），可排除此 DNA 非汉族人员所留，将案件后续侦破工作集中在非汉族人群中排查。在案件侦破后确定了该人员 DNA 为当地少数民族人员所留，符合种族推断的非汉族人所留的结果。

3.2 案例二

计算结果显示肋软骨和白骨化股骨 DNA 祖先成分东亚成分占比分别为 92%（见图 4）和 89%（见图 5），可推断肋软骨尸体为汉族人员，股骨尸体种族成分在临界值附近难以进行推断，但也说明了降解检材对该体系检测没有影响。

3.3 案例三

计算结果显示现场卫生纸上 DNA 祖先成分中东亚/欧洲成分占比为 62%/34%（见图 6），推断为欧洲/东亚混合人种，可将案件下一步的排查集中在非汉族人员中。

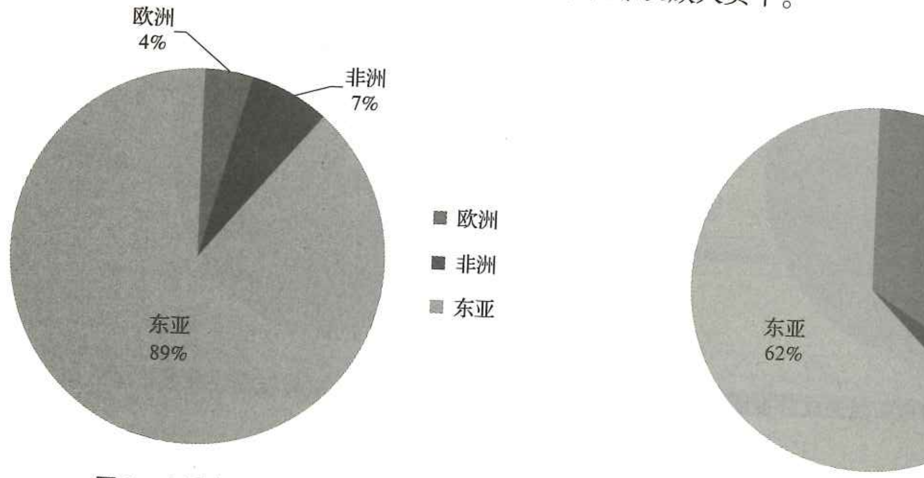


图 5 白骨化股骨祖先成分推断结果

图 6 现场卫生纸祖先成分推断结果

4 讨论

27 重 SNP 种族推断体系在日常案件中的使用，可从提取到的 DNA 中挖掘出更多的人员信息，对以往个体识别是一个很好的补充。通过近半年实战应用，种族推断体系所需 DNA 模板量少；适用于常规检材也可在微量检材和降解检材中使用；无须特殊仪器设备；可在普通 DNA 实验室就可使用。在 STR 分型未比中人员的案件中，特别是在爆炸案、无名尸案件、盗窃案和强奸案件中可缩小排查范围，为案件下一步的决策、定性、排查等提供有力依据，为案件侦破节省大量的时间、人力、物力和财力。

但在实际应用中也遇到个别个体种族成分在东亚和混合人种临界值难以进行判别的情况，该体系数据库还需更多数据的补充和完善。且在应用中还需要注意的是种族和民族并不完全一致，种族是生物学意义上的概念，而民族是文化意义上的概念，而不同人种之间的融合是一个动态的过程，没有非常明显的界值，所以混合人群的推断结果有时会与户籍上填报的民族信息出现差别，种族推断并非等同于民族推断，所以在实际应用中在排查人员民族的同时，要综合外貌特征进行排查。

综上所述，27 重 SNP 种族推断体系在兵团 DNA 检案中初见成效，可与实验室常规的 STR 个体识别体系互补应用，为破案提供更多、更全面的信息。在今后的还可探索更多的应用方法，并积累数据不断完善数据库使体系推断更加准确。

【参考文献】

[1] 孙若男. 新疆地区暴恐犯罪防控探究［D］. 安徽大学，2015.
[2] 孙启凡，赵蕾，江丽，等. DNA 来源人特征刻画的法庭科学应用研究概况［J］. 刑事技术，2015，40（3）：232-235.
[3] 魏丽，魏以梁，江丽，孙启凡，王英元，李彩霞. 27-plex SNPs 复合扩增检测体系构建与应用评价［J］. 中国法医学杂志，2015（1）.
[4] 刘海渤，孙启凡，陈健刚，魏以梁，李越，唐晖，程宝文，李平，迪力·夏提，张涛，马泉，赵兴春，李彩霞. 27 重 SNP 种族推断体系准确性验证研究［J］. 中国法医学杂志 . 2015（6）.
[5] 梁鲁宁，周颂冬，胡兰. 当代法庭物证，鉴定技术经典与前沿［M］. 中央编译出版社，2004.
[6] Yi-Liang Wei，Qi-Fan Sun，Qing Li，Jun-Ling Yi，Lei Zhao，Yuan Ou，Li Jiang，Tao Zhang，Hai-Bo Liu，ian-Gang Chen，Bo-Feng Zhu，Jian Ye，Lan Hu，Cai-Xia Li，. Genetic structure and differentiation analysis of a Eurasian Uyghur population by use of 27 continental ancestry-informative SNPs［J］. Int J Legal Med，s00414-016-1335-2.
[7] 黄艳梅，王萌鸽，赵兴春. 接触 DNA 在法医实践中的应用研究进展［J］. 中国法医学杂志，2016（2）.

Chelex 与 M48 联用处理检材

周 浩[1]，冯保强[1]，张 涛[1]，马 咪[2]
（1. 新疆生产建设兵团公安局，830002；
2. 新疆生产建设兵团第七师公安局，833200）

1 案件简介

案件 1：2015 年 9 月南疆某地玉米地中发生一起强奸案，中心现场发现提取可疑红色斑迹泥土一处。

案件 2：2016 年 7 月阿克苏某地儿童被猥亵，勘察人员提取擦拭卫生纸若干现场精斑。

2 原理

Chelex100 法：

取适量检材，剪碎置于 1.5mL 离心管中，加入 1000μL 去离子纯水，室温浸泡 30min，13000r/min 离心 3min；弃上清液，沉淀物中加入 150μL 5% Chelex100，PK，终浓度 100μg/mL，56℃保温 60min；100℃ 煮 沸 10min，13000r/min 离 心 3min，4℃保存扩增备用。

磁珠（M48）法：

采用 QIAGEN 公司的 M48 操作方法。取检材放入 1.5mL 离心管中，加入 200μL G2 和 20μL PK，56℃消化 2h；13000r/min 离心 3min 弃载体，加入 MTL 600μL，磁珠 30μL，振荡摇匀 10min，磁力架